Iranian Food Science and Technology Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 4, Oct.-Nov. 2024, p. 417-431

Production of Whey Protein Concentrate Smart Film Containing Pomegranate and Red Grape Anthocyanin and Zinc Oxide Nanoparticles: Physicochemical and Structural Characteristics

E. Taghizadeh[1], M. Alizadeh Khaled abad[2*], H. Hassanzadeh[3]**

1 and 2- Graduted M.Sc. and Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: m.alizadeh@urmia.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Food Science and Hyeigene, Ilam University, Ilam, Iran
(**- Corresponding Author Email: h.hassanzadeh@ilam.ac.ir)

Received: 30.10.2023 Revised: 24.12.2023 Accepted: 17.01.2024 Available Online: 20.01.2024	**How to cite this article:** Taghizadeh, E., Alizadeh Khaled abad, M., & Hassanzadeh, H. (2024). Production of whey protein concentrate smart film containing pomegranate and red grape anthocyanin and zinc oxide nanoparticles: physicochemical and structural characteristics. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 20*(4), 417-431. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.84940.1289

Introduction

Edible films and coatings are suitable for fresh, semi-processed foods, and also for processed fruits and vegetables because they can increase their shelf life, protect them from the activity of microorganisms, and ultimately improve their nutritional and sensory value. In addition, edible films and coatings are able to transfer compounds that may have been added to improve the performance of the coating film and better preserve the product or have benefits for the consumer. The present research was conducted with the aim of investigating the structural physicochemical properties of whey protein concentrate smart film containing pomegranate and red grape anthocyanins and zinc oxide nanoparticles.

Material and Method

To prepare nano composite film, 10 grams of whey protein concentrate powder was added to 90 ml of distilled water. At the beginning of the production of the film, the pH was adjusted to pH = 8 with the help of 0.1 normal soda, and in order to better dissolve the isolate, the solution was heated for 30 minutes at 80 degrees Celsius to ensure denaturation. It was then placed on a magnetic stirrer. After cooling the solution, pomegranate and red grape anthocyanins were added to the solution separately according to the statistical plan. The solution was then homogenized for 10 minutes at 13,000 rpm, and finally zinc oxide nanoparticles were added to the solution according to the statistical plan and homogenized on a magnetic stirrer for 10 minutes, and then in an ultrasound bath to disperse for 10 minutes In the next step, glycerol was added to the 40% of the weight of the dry substance and placed on a rotating magnetic stirrer without heat for 15 minutes. The formed solution was aerated for 10 minutes and 25 ml of it was poured in the center of the plate (8 cm). Then the film was dried in the oven at 38 degrees Celsius and the control film was produced. After preparing the films, the color of the film samples was determined by measuring the color components L* (lightness), a* (red/green) and b* (yellow/blue) using a Hanterlab colorimeter. The thickness of the films was measured by a digital micrometer with an accuracy of 0.001 mm at 10 random points of each film. Finally, humidity, solubility and FTIR measurement tests were also performed for the prepared films. The preparation of whey protein concentrate smart composite film was investigated based on two variables: red grape anthocyanin/pomegranate anthocyanin percentage and copper oxide nanoparticle percentage. Each of which was investigated in five levels and the response surface methodology

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.84940.1289

(RSM) of the central composite design was used. A total of 24 composite films were prepared and their physical and chemical properties were investigated. Also, after analyzing the data, the optimal movies were checked based on optimization and utility function by 11 Design expert statistical software.

Results and Discussion

By increasing the amount of anthocyanin and zinc oxide nanoparticles, the thickness of the layers increased up to the middle point (0.58-0.89 mm), and the largest increase in thickness was observed in samples with 1.5 cc of anthocyanin and 2% of zinc oxide nanoparticles. Also, films with low concentrations of anthocyanin (0.1-4 cc) and a high percentage of the selected range of zinc oxide (0.2-0.7%) show the highest percentage of solubility. The added zinc oxide nanoparticles increased the solubility of the films. FTIR analysis showed that the interactions between whey concentrate and anthocyanins were probably responsible for the changes in the properties of the composite layers. The utility function for each response was estimated by numerical methods and the general utility function was obtained for the optimal samples of red grape and pomegranate. For the optimal pomegranate, the obtained results include the amount of anthocyanin equal to 2.6 cc, zinc oxide nanoparticles 0.6 (weight/volume), solubility 65.37, thickness 0.64 mm, indices a, L and bwere. 27.88 0.24 and -2.01, respectively. Finally its total desirability has been reported as 0.58. The utility function for each answer was estimated by numerical methods and the general utility function was obtained for the optimal samples of red grapes such as the optimal pomegranate. For the optimal grape film samples, the obtained results include: the amount of anthocyanin equal to 1.38 cc, 3.4 zinc oxide nanoparticles (weight/volume), solubility 59.83%, thickness 0.83 mm, a, L and b indices were 27.03, 7.05 and 1.92 respectively and, its total desirability was 0.63.

Keywords: Edible film, Grape anthocyanin, Pomegranate anthocyanin, Whey protein concentrate, Zinc oxide nanoparticles

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۴، مهر-آبان ۱۴۰۳، ص. ۴۳۱-۴۱۷

تولید فیلم هوشمند کنسانتره پروتئین آب پنیر حاوی آنتوسیانین انار و انگور قرمز و نانو ذرات اکسید روی: بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ساختاری

ابراهیم تقی زاده[۱]- محمد علیزاده خالدآباد[۲]*- حامد حسن زاده[۳]**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۷

چکیده

فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی هوشمند برای غذاهای تازه و نیمه فرآیند شده و میوه‌ها و سبزی‌های فرآیند شده مناسب بوده و عمر ماندگاری آن‌ها را از طریق کنترل فعالیت میکروارگانیسم‌ها افزایش داده و سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای و حسی آنها می‌شوند. تحقیق حاضر با هدف بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ساختاری فیلم هوشمند کنسانتره پروتئین آب پنیر حاوی آنتوسیانین انار و انگور قرمز و نانو ذرات اکسید روی انجام شد. با افزایش مقدار آنتوسیانین و نانوذرات اکسید روی تا نقطه میانی ضخامت لایه‌ها افزایش یافته (۵۸/۸۹ - ۰/۰ میلی‌متر) و بیشترین افزایش ضخامت در نمونه‌هایی با ۱/۵ سی‌سی آنتوسیانین و ۲ درصد نانوذرات اکسید روی مشاهده شد. همچنین فیلم‌های با غلظت‌های پایین از آنتوسیانین (۴-۰/۱ سی‌سی) و درصد بالایی از محدوده انتخابی از اکسید روی (۲/۷-۰/۰ درصد)، بیشترین درصد حلالیت را از خود نشان می‌دهند. نانو ذرات اکسید روی افزوده شده موجب افزایش انحلال‌پذیری فیلم‌ها شدند. تجزیه و تحلیل FTIR نشان داد که برهمکنش بین کنسانتره آب پنیر و آنتوسیانین‌ها احتمالاً مسئول تغییرات در خواص لایه‌های کامپوزیت است. به‌طوری کلی مشخص شد که پیک‌های مختلف مشاهده شده برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین پروتئین کنسانتره آب پنیر و عصاره انار و انگور را نشان می‌دهند.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین انار، آنتوسیانین انگور، فیلم خوراکی، کنسانتره پروتئین آب پنیر، نانو ذره اکسید روی

مقدمه

در سال‌های اخیر، دلیل اصلی تغییر در فناوری بسته‌بندی مواد غذایی، افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان برای غذاهایی است که کمترین فرآوری را پشت سر گذاشته‌اند (Amit *et al*., 2017). با این حال، عملکرد اصلی آن‌ها جدا کردن غذا از محیط، کاهش قرار گرفتن در معرض عوامل فساد (به‌عنوان مثال، میکروارگانیسم‌ها، اکسیژن، بخار آب و طعم‌های غیر طبیعی) و جلوگیری از از بین رفتن ترکیبات مطلوب (مانند مواد فرار) طعم و افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی می‌باشد (Otoni *et al*., 2017). مواد پلیمری طبیعی مانند پنبه، چوب، ابریشم، پشم و چرم برای قرن‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند و خواص ساختاری و عملکردی آن‌ها بر توسعه پلیمرهای مبتنی بر نفت تأثیر گذاشته است. محبوبیت پلاستیک‌ها در نیمه دوم قرن بیستم به‌طور قابل توجهی افزایش یافت، تا زمانی‌که به‌دلیل قیمت نسبتاً پایین، مقاومت مکانیکی، قابلیت آب‌بندی حرارتی، تطبیق‌پذیری شکل و درجه سختی، بر بازار بسته‌بندی مواد غذایی تسلط یافتند. با این حال، سوخت‌های فسیلی تجدیدناپذیر و عمدتاً غیرقابل تجزیه بوده و تنها در ایالات متحده، سالانه بیش از ۳۲ میلیون تن پلاستیک دور ریخته می‌شود (Dasgupta *et al*., 2019).

بازیافت به‌دلیل مشکلات فنی و اقتصادی محدود است. در واقع، کمتر از ۳ درصد از زباله‌های پلاستیکی در سراسر جهان بازیافت می

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: m.alizadeh@urmia.ac.ir)
۳- استادیار، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
(**- نویسنده مسئول: Email: h.hassanzadeh@ilam.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.84940.1289

شوند. علاوه بر این، سوزاندن آن‌ها می‌تواند ترکیبات سمی، مانند فوران‌ها و دیوکسین‌های تولید شده از سوختن پلی‌وینیل کلراید تولید کند (Ahmed *et al*., 2018). پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر که از منابع تجدیدپذیر به جای منابع فسیلی هستند، لزوماً زیست‌تخریب‌پذیر نیستند. پلی‌اتیلن و پلی‌پروپیلن احتمالا قابل تجدید هستند، زیرا مونومرهای آنها را می‌توان از اتانول مشتق کرد (Otani *et al*., 2017). مواد ایده‌آل برای جایگزینی پلیمرهای معمولی باید هم تجدیدپذیر و هم زیست‌تخریب‌پذیر باشند.

پلی‌ساکاریدها و پلی‌پپتیدها این الزامات را برآورده می‌کنند و خواص تشکیل فیلم خوبی دارند (Diblan *et al*., 2020). بیشتر پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها نیز خوراکی هستند و می‌توانند به‌عنوان ماتریس یا شبکه برای فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی استفاده شوند که قرار است همراه با غذا خورده شوند (Thulasisingh *et al*., 2021). از سوی دیگر، مواد زیست تخریب‌پذیر لزوماً خوراکی نیستند. فیلم‌های خوراکی باید فقط دارای اجزای غذایی در ترکیبات خود باشند که شامل نه تنها ماتریس تشکیل فیلم و حلال، بلکه نرم کننده‌ها و سایر افزودنی‌ها را نیز شامل می‌شود (Fathiraja *et al*., 2021).

کاروتنوئیدها، که بیشترین مورد مطالعه در مورد رنگدانه‌های طبیعی غذایی می‌باشند. رنگدانه‌های لیوفیلی هستند که مسئول رنگ‌های زرد، نارنجی و قرمز غذاهای گیاهی (به‌عنوان مثال ذرت، انگور، انبه هندی، گوجه‌فرنگی، هندوانه) و رنگ قرمز برخی از ماهی‌ها هستند. آنتوسیانین‌ها رنگدانه‌های محلول در آب هستند که مسئول رنگ‌های قرمز، آبی و بنفش در میوه‌ها، سبزیجات و نوشیدنی‌ها (توت فرنگی، گیلاس، زغال اخته، کلم قرمز و بادمجان و شراب قرمز) هستند (Rodriguez-Amaya *et al*., 2019). فلاونوئیدها دسته مهمی از محصولات طبیعی هستند که اهمیت آن‌ها در گیاهان غیرقابل چشم پوشی می‌باشد. این مواد دارای ساختار پلی‌فنولیک می‌باشند که به‌طور گسترده در میوه‌ها و سبزیجات بافت می‌شوند. این ترکیبات دارای اثرات بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی مفید در رابطه با بیماری‌هایی مانند آلزایمر و آترواسکلروزیس می‌باشند (Panche *et al*., 2016). زیرا علاوه بر داشتن رنگ زیبا و درخشان، شواهد نشان می‌دهد که فلاوونوئیدها نقش کلیدی در کاهش خطر ابتلا به بیماری دارند (Wang *et al*., 2018). نتایج اخیر نشان می‌دهد مصرف ترکیبات حاوی آنتوسیانین در سلامتی مصرف‌کننده مؤثر است (Díaz- García *et al*., 2015).

ترکیبات فلاونوئیدی موجود در انار نقش مهمی در سلامتی انسان دارند. در سال‌های اخیر برخی از قابلیت‌های بالقوه این ترکیبات در کاهش کلسترول LDL ممانعت از لخته شدن خون و حفاظت از سلول ها در برابر انواع سرطان‌ها موضوع تحقیق بسیاری از محققین شده است (Pala & Toklucu, 2011).

آنتوسیانین‌ها تنها ترکیبات فنولیکی نیستند که این اثرات را دارند بلکه سایر ترکیبات فنولیکی پوست و دانه انار نیز چنین اثراتی را از خود نشان می‌دهند. روغن دانه انار بر سرطان خون مؤثر می‌باشد. در تحقیقات مختلف نشان داده شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی انار نسبتاً پائین ولی فعالیت ضد جهش‌زایی نسبتاً بالایی دارند در حالی‌که عصاره‌های متانولی عکس این حالت را نشان دادند (Jafari *et al*., 2017). همچنین محققین نشان داده‌اند که آنتوسیانین‌ها نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه انار ایفا می کنند. آب انار تجاری در مقایسه با شراب قرمز و چای سبز فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار قوی از خود نشان می‌دهد. به‌طوری‌که فعالیت آنتی اکسیدانی آن دو برابر شراب قرمز و ۳ برابر چای سبز می‌باشد (Abdellatif *et al*., 2017).

فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی فعال برای غذاهای تازه و نیمه فرآیند شده و میوه‌ها و سبزی‌های فرآیند شده مناسب بوده و عمر ماندگاری آنها را از طریق کنترل فعالیت میکروارگانیسم‌ها افزایش داده و سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای و حسی آنها می‌شوند. بعلاوه فیلم‌ها و پوشش های خوراکی قادر به انتقال ترکیباتی هستند که این ترکیبات ممکن است جهت بهبود عملکرد فیلم با پوشش و حفظ بهتر محصول به آن افزوده شده باشند یا سودی برای مصرف‌کننده داشته باشند. به‌عنوان مثال، ترکیبات زیست‌فعال آن کپسوله شده و محصولات جدیدی با خواص عملکردی جدید را گسترش داده‌اند که می‌توانند سلامت مصرف کننده را ارتقا دهند (Misra *et al*., 2021).

پروتئین‌های حبوبات، به‌دلیل ساختار و ترکیب شیمیایی که دارند، فیلم‌هایی با خواص ممانعتی خوب در برابر اکسیژن، عطر و طعم و روغن ها تشکیل می‌دهند. این فیلم‌ها و پوشش‌ها در رطوبت‌های نسبی پایین عملکردی مشابه فیلم‌های سنتزی با خصوصیات عالی از خود نشان می دهند. خاصیت آب دوستی پروتئین‌ها سبب افزایش نفوذپذیری فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی نسبت به بخار آب شده است. افزایش پیوندهای پروتئینی (مانند زنجیره‌هایی با پیوندهای عرضی) می‌تواند نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها را کاهش دهد. استفاده از فیلم‌های خوراکی در بسته بندی فرآورده‌های غذایی مستلزم آن است که فیلم‌ها خواص کاربردی (خواص مکانیکی، بازدارندگی در برابر گازها و رطوبت و خواص حرارتی) مطلوبی داشته باشند. نفوذپذیری مواد مورد استفاده برای بسته‌بندی فرآورده‌های غذایی یکی از مسائل بسیار اساسی است که باید مورد بررسی قرار گیرد (Liu *et al*., 2021). جهت غلبه بر این مشکل در فیلم‌ها می‌توان از روش‌هایی مانند استفاده از فیلم‌های مرکب و نانو کامپوزیت، بهینه‌سازی شرایط تولید فیلم‌ها، اصلاح ساختار زیست بسپارها کمک گرفت. از طرف دیگر پروتئین‌ها یک محیط مستعد برای رشد میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شوند؛ که برای غلبه بر این مشکل

می‌توان از روش‌هایی همچون افزودن ترکیباتی با خاصیت ضد میکروبی به فیلم‌ها استفاده کرد.

نانوذرات اکسیدهای فلزی در طیف گسترده‌ای بعنوان عامل ضد میکروبی در ظروف نگهداری و بسته‌بندی، مواد افزودنی و مکمل‌های غذایی در صنایع غذایی بکار می‌روند. از مزایای استفاده از نانوذرات اکسیدهای معدنی در علوم پزشکی، وجود عناصر معدنی می‌باشد که در مقیاس نانو خواص بهتری را از خود نشان می‌دهند. نانوذرات اکسید روی از جمله اکسیدهای فلزی است که به‌دلیل خواص گسترده مورد توجه بیشتری قرار گرفته اند. اکسید روی یکی از ترکیبات روی می‌باشد که توسط وزارت غذا و داروی آمریکا به‌عنوان یک ماده بی‌خطر شناخته شده است. هم چنین از نمک‌های روی در درمان کمبود روی در بدن استفاده می شود. نانوذرات اکسید روی خاصیت ضدباکتریایی مؤثری را نسبت به طیف گسترده‌تری از باکتری‌ها از خود نشان داده است. از جمله پاتوژن‌های مهم مواد غذایی *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشند (Nasiri *et al*., 2014).

ایفمالیندا و همکاران (Ifmalinda *et al*., 2023) به بررسی ویژگی‌های فیلم خوراکی از نشاسته ذرت با گلیسرول اضافی و تغییرات نانوذرات اکسید روی (ZnO) پرداختند. این مطالعه با هدف شناسایی اثرات تغییرات در خواص غلظت نانوذرات اکسید روی فیلم‌های خوراکی ساخته شده از نشاسته ذرت (*Zea mays* L.) و ایجاد غلظت بهینه نانوذرات اکسید روی انجام شده است. غلظت ZnO از ۰ تا ۳ تا ۹ تا ۱۲ درصد استفاده شد. نتایج نشان داد که غلظت ۱۲ درصد درمان بهینه را برای خواص فیلم خوراکی فراهم می‌کند. با افزودن غلظت ۱۲٪ ZnO، خواص فیلم خوراکی در این تحقیق بیشترین بهبود را نشان داد که ۸۱٫۹۴٪ مقاومت در برابر آب، ۱٫۴۳۴ MPa استحکام کششی و ۳۸٫۴۶٪ درصد کشیدگی را نشان داد. کمترین ارزش زیست‌تخریب پذیری در فیلم خوراکی با غلظت ZnO 12 درصد طی ۱۴ روز مشاهده شد. مقاومت، استحکام کششی و درصد کشیدگی لایه خوراکی با افزایش محتوای ZnO افزایش می‌یابد. با توجه به حساسیت آنتوسیانین‌ها به pH و تغییر رنگ آنها در pH های مختلف هدف اصلی این تحقیق شامل طراحی یک فیلم هوشمند بر پایه کنسانتره آب پنیر برای تشخیص فساد مواد غذایی در تحقیقات آتی و همچنین بهینه سازی فرمولاسیون فیلم‌های تولید شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

پتاسیم برمید خشک، کلسیم نیترات، متانول، کلسیم سولفات، پتاسیم سولفات، تری کلرواستیک اسید، آمونیوم تیوسینات از شرکت مرک (آلمان) و فنل فتالئین از شرکت بایوکم (فرانسه) تهیه شدند.

روش تهیه فیلمها

جهت تهیه فیلم نانو کامپوزیت، ۱۰ گرم پودر کنسانتره پروتئین آب پنیر (با درجه خلوص ۹۰ درصد) به ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. در آغاز تولید فیلم قبل از بالا رفتن دمای محلول تولیدی pH را به کمک سود ۰/۱ نرمال روی pH= ۸ تنظیم کرده و جهت حل شدن بهتر ایزوله، این مخلوط به‌مدت ۳۰ دقیقه و با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد جهت اطمینان از دناتوراسیون بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. بعد از سرد شدن محلول، آنتوسیانین انار و انگور قرمز (خریداری شده از شرکت پیشگامان شیمی) به‌صورت جداگانه مطابق طرح آماری به محلول اضافه شدند. سپس با استفاده از دستگاه هموژنایزر (۱۲ I9D شرکت هایدولف، آلمان) محلول به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ هموژن می‌گردد و سپس نانو ذره اکسید روی طبق طرح آماری را به محلول اضافه شده و به‌مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی همگن شده و بعد در حمام اولتراسوند جهت پخش شدگی به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. در مرحله بعد افزودن گلیسرول به میزان ۴۰ درصد وزن ماده خشک و به‌مدت ۱۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی دارای چرخش و بدون حرارت قرار گرفت. محلول شکل گرفته به‌مدت ۱۰ دقیقه هواگیری و ۲۵ میلی‌لیتر از آن در مرکز پلیت (۸ سانتی‌متر) ریخته شد. سپس فیلم در داخل آون در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد خشک و فیلم شاهد تولید شد. پس از خشک شدن در شرایط ثابت برای همه تیمارها، فیلم از سطح پلیت جدا و مورد ارزیابی قرار گرفت (Momeni *et al*., 2023; Taghizadeh *et al*., 2023).

خواص رنگی

رنگ نمونه‌های فیلم از طریق اندازه‌گیری مؤلفه‌های رنگی *L (روشنایی[1])، *a (قرمزی/سبزی) و *b (زردی/آبی) با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج هانترلب (Minolta model CR- 410, Tokyo, Japan) تعیین شد. نمونه‌ها بر روی صفحه سفید استاندارد قرار گرفته و میزان رنگ با استفاده از پارامترهای هانتر بصورت ۳ نقطه از هر فیلم مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و میانگین داده‌ها گزارش شد. اختلاف رنگ کلی[2] (ΔE)، اندیس زردی[3] (YI) و اندیس سفیدی[4] (WI) نیز به‌صورت زیر محاسبه شدند (Jahed *et al*., 2017; Hosseini *et al*., 2023).

1- Lightness
2- Total Color Difference
3- Yellowness Index
4- Whiteness Index

(۱)

$$\Delta E = [(L_{Standard} - L_{Sample})^2 + (a_{standard} - a_{sample})^2 + (b_{standard} - b_{sample})^2]^{0.5}$$

$$YI = \frac{142.86 b_{sample}}{L} \quad (۲)$$

$$WI = 100 - [(100 - L_{Sample})^2 + a_{sample}^2 + b_{sample}^2]^{0.5}$$

(۳)

ضخامت فیلم

ضخامت فیلم‌ها به‌وسیله میکرومتر دیجیتالی (Japan ,Co- Mitutoyo) با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر در ۱۰ نقطه تصادفی از هر فیلم اندازه‌گیری شد. میانگین ضخامت نقاط مختلف هر فیلم در محاسبات خواص مکانیکی و نفوذپذیری به بخار آب مورد استفاده قرار گرفت (Razmjoo *et al.*, 2020).

رطوبت

نمونه‌هایی از فیلم با ابعاد ۲۰×۲۰ میلی‌متر تهیه شد و در دسیکاتور حاوی سولفات کلسیم (RH=۰ درصد) به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت پس از توزین اولیه نمونه‌ها به دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیتریت کلسیم (RH=۵۵ درصد) منتقل شده و در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس وزن نمونه‌ها در زمان‌های مختلف تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شده و میزان جذب رطوبت از معادله (۴) محاسبه شد.

جذب رطوبت= Wt-Wo /Wo × 100 (۴)

W وزن نمونه پس از زمان t در درصد، RH=۵۵، و W وزن اولیه نمونه‌ها می باشد (Mileriene *et al.*, 2021).

حلالیت در آب

نمونه‌های فیلم در ابعاد ۳×۳ cm برش داده شد و برای رسیدن به وزن خشک اولیه به‌مدت ۳ ساعت در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس نمونه‌های فیلم پس از توزین (M_i) داخل ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه ور شدند و ظروف در حالی‌که به‌صورت مقطعی همزده می‌شدند، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. سپس نمونه‌های فیلم از داخل آب خارج و به‌مدت ۶ ساعت در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند. با توزین دوباره نمونه‌ها وزن خشک نهایی (M_f) بدست آمد. درصد حلالیت در آب از رابطه زیر محاسبه گردید (Abdollahi *et al.*, 2012).

آزمون طیف‌سنجی FTIR

برای انجام آزمون FTIR از اسپکتروفتومتر Nexus–670, Thermo Nicolet ساخت کشور آمریکا استفاده شد. برای این آزمون حدود ۲ میلی‌گرم نمونه بصورت دستی آسیاب شده و با نسبت ۱:۱۰۰ با KBr مخلوط شده و توسط پرس به قرصی با ضخامت حدود ۱ میلی متر تبدیل شد. آزمون اسپکتروسکوپی FTIR پودر کیتوزان و نمونه‌های فیلم در محدوده ۴۰۰۰ الی ۵۰۰ cm^{-1} و با تفکیک‌پذیری ۶۴ cm^{-1} انجام گرفت.

$$WS(\%) = \frac{(M_i - M_f)}{M_i} \times 100 \quad (۵)$$

طرح آماری

تهیه فیلم مرکب هوشمند کنسانتره پروتئین آب پنیر بر اساس دو متغیر درصد آنتوسیانین انگور قرمز/آنتوسیانین انار و درصد نانو ذره اکسید مس مورد بررسی قرار گرفت. که هر کدام در پنج سطح مورد بررسی قرار گرفت و از روش سطح پاسخ طرح مرکب مرکزی (از دو طرح مرکب مرکزی درصد آنتوسانتین انگور قرمز و درصد نانو ذرات اکسید روی و طرح مرکب مرکزی درصد آنتوسانتین انار و درصد نانو ذرات اکسید روی) استفاده شد که طبق جدول ۱ مجموعاً ۲۴ فیلم مرکب تهیه شده و مورد بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی قرار گرفتند. همچنین بعد از آنالیز داده‌ها، فیلم‌های بهینه بر اساس بهینه‌سازی و تابع مطلوبیت توسط نرم‌افزار آماری Design expert ۱۱ بررسی شد.

جدول ۱- آزمایشات حاصل از طرح مرکب مرکزی برای فاکتورهای انتخاب شده

Table 1- Experiments from the central composite design for the selected factors

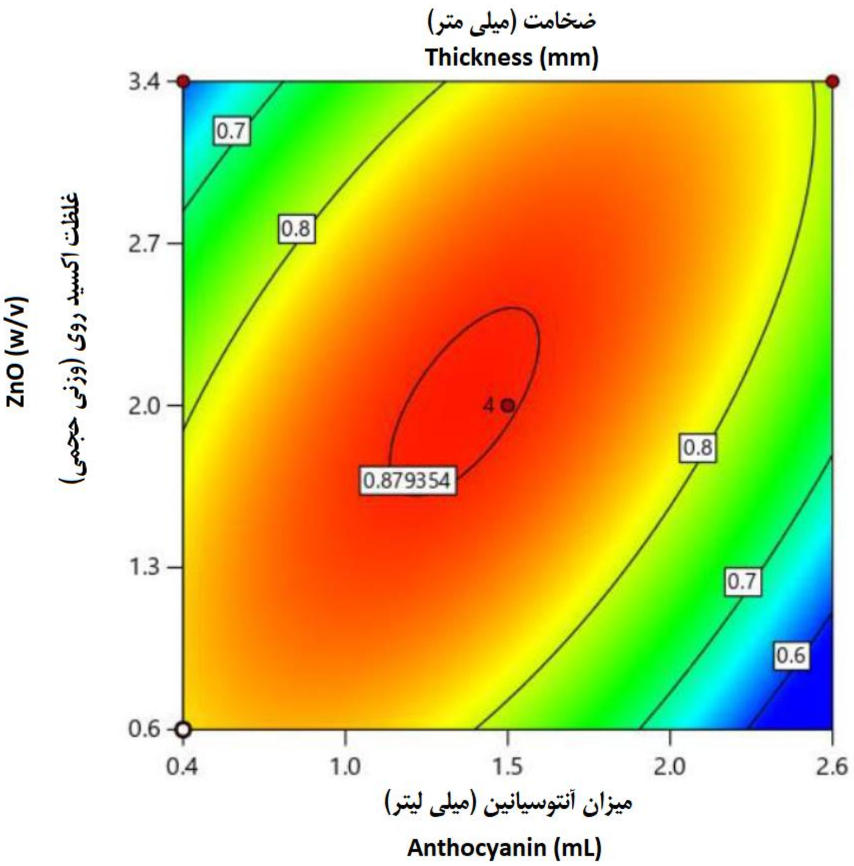
شماره آزمایش Run	غلظت اکسید روی ZnO (W/V)	غلظت آنتوسیانین Anthocyanins (%)
1	2	1.5
2	4	1.5
3	0.6	2.6
4	2	1.5
5	0	1.5
6	2	1.5
7	0.6	0.4
8	3.4	2.6
9	2	0
10	2	1.5
11	2	3
12	3.4	0.4

نتایج و بحث

ضخامت فیلم‌های تولید شده

ضخامت فیلم‌های تهیه شده جهت بسته‌بندی مواد غذایی یکی از عوامل مهم بر عمر ماندگاری مواد غذایی بوده و بر محتوی بسته

مستقیما اثر می‌گذارد. در این تحقیق ضخامت نمونه فیلم‌های تهیه شده بر اساس روش تشریح شده در مواد و روش‌ها، محاسبه و مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌طور کلی، تأثیر اصلی عوامل مورد مطالعه بر ضخامت لایه‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵)، مطابق شکل ۱ با افزایش مقدار آنتوسیانین و نانوذرات اکسید روی تا نقطه میانی ضخامت لایه‌ها افزایش یافته (۵۸/۸۹ - ۰/۰ میلی‌متر) و بیشترین افزایش ضخامت در نمونه‌هایی با ۱/۵ سی‌سی آنتوسیانین و ۲ درصد نانوذرات اکسید روی مشاهده شد (۰/۸۷ میلی‌متر) افزایش ضخامت لایه‌های تولید شده به دنبال افزودن اکسید روی می‌تواند به اندازه بسیار کوچک نانو ذرات باشد که به راحتی درون حفره‌های موجود در شبکه پروتئینی فیلم جای می‌گیرند (Pino *et al*., 2021). از سوی دیگر الحاق عصاره آنتوسیانین غلیظ به نمونه‌های فیلم باعث افزایش قابل توجهی در ضخامت لایه های خوراکی می‌شود که می‌توان آن را به برهمکنش بین آنتوسیانین‌ها به‌عنوان مولکول‌های فعال زیستی با پروتئین‌ها نسبت داد. این نوع از فعل و انفعالات می‌توانند پیوندهای هیدروژنی تشکیل دهند و با افزایش غلظت آنتوسیانین، یک شبکه فیلم با محتوای جامد بیشتری تولید کنند. افزایشی بر ضخامت نمونه‌ها دارد.

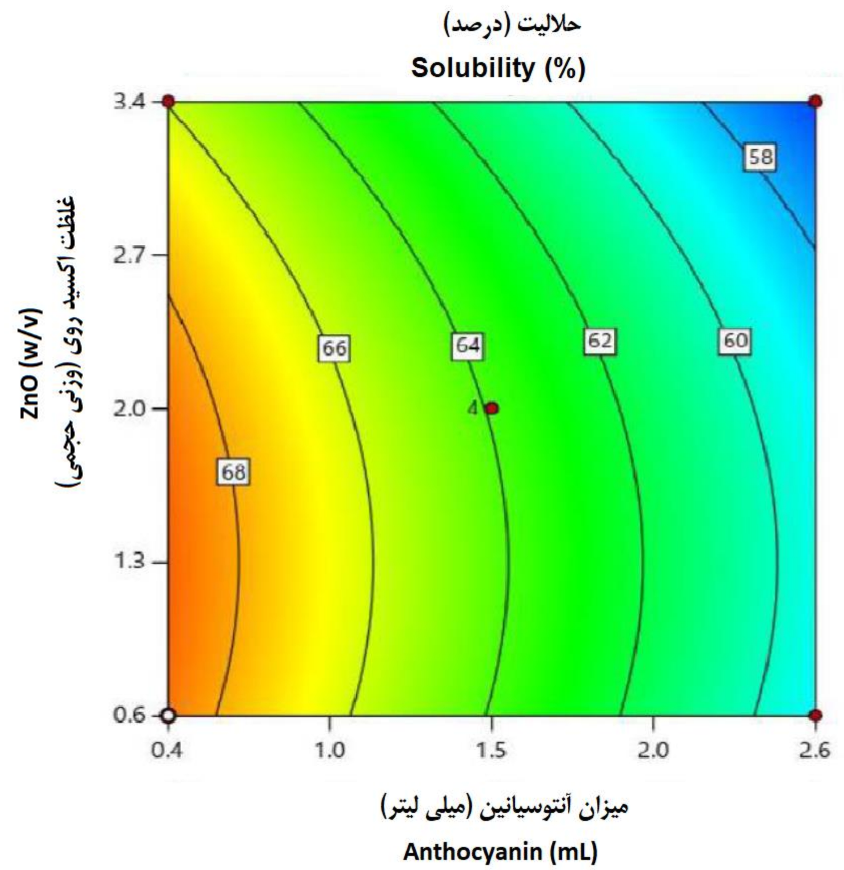


شکل ۱- کانتور پلات تأثیر فاکتورهای آنتوسیانین (انگور و انار) و نانو ذرات اکسید روی بر روی ضخامت فیلم

Fig. 1. Contour plot of the effect of anthocyanin factors (grape and pomegranate) and zinc oxide nanoparticles on film thickness

درصد حلالیت فیلم‌های تولید شده در آب

قابلیت انحلال در آب، یکی از خصوصیات مورد مطالعه در فیلم‌های خوراکی است. در بعضی از موارد ضروری است که فیلم طوری طراحی شود که تا قبل از مصرف آن قابلیت انحلال در آب را داشته باشد. طبق نتایج حاصله، پارامترهای مؤثر در مدل بر روی درصد حلالیت فیلم‌ها اثر معنادار دارند (P<۰/۰۵). نتیجه برهمکنش آنتوسیانین و اکسید روی در شکل ۲ قابل مشاهده می‌باشد. به‌طوری‌که در غلظت‌های پایینی از آنتوسیانین (۰/۱-۴ سی‌سی) و درصد بالایی از محدوده انتخابی از اکسید روی (۰/۰-۲/۷ درصد)، فیلم‌های بیشترین درصد حلالیت را از خود نشان می‌دهند.



شکل ۲- کانتور پلات تأثیر فاکتورهای آنتوسیانین (انگور و انار) و نانو ذرات اکسید روی بر روی درصد حلالیت فیلم

Fig. 2. Contour plot of the effect of anthocyanin factors (grape and pomegranate) and zinc oxide nanoparticles on the solubility percentage of the film

حلالیت یک عامل قابل توجه و مهم برای ایجاد فیلم‌های خوراکی است که ظرفیت جذب آب فیلم‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و استفاده از آنها را محدود می‌کند (Moghadam *et al.*, 2021). درصد حلالیت برای فیلم‌های فعال تولید شده نشان می‌دهد که از حدود ۵۸ در فیلم های با غلظت بالای آنتوسیانین به ۶۸ درصد در فیلم‌های با کمترین میزان آنتوسیانین مصرفی تغییر می‌کند که می‌تواند به‌دلیل ماهیت آبدوست آنتوسیانین‌ها در غلظت‌های پایین باشد. متا فخوری و همکاران و همکاران (Matta Fakhouri *et al.*, 2019) رفتار مشابهی در اندازه گیری درصد حلالیت فیلم‌ها گزارش کرده اند که در آن فیلم‌های فعال چند منظوره با ترکیب عصاره پوست آلو سیاه غنی از آنتوسیانین در فیلم‌های مبتنی بر کیتوزان مورد مطالعه قرار گرفتند. علاوه بر این، موسو و همکاران (Musso *et al.*, 2019) تأثیر عصاره الکلی و آبی کلم قرمز را بر حلایت فیلم‌های هوشمند مبتنی بر ژلاتین ارزیابی کردند و دریافتند که محتوای آنتوسیانین بیشتر در عصاره الکلی و خواص آبدوست آن باعث می‌شود فیلم در آب حل شود. در واقع انحلال‌پذیری، سنجش مقاومت فیلم‌ها نسبت به آب است یکی از مهم‌ترین نقش‌های فیلم‌های خوراکی کاهش تبادل رطوبت بین فرآورده غذایی و محیط و جلوگیری از خروج آب ماده غذایی است (Moghadam *et al.*, 2021).

نانو ذرات اکسید روی افزوده شده موجب افزایش انحلال‌پذیری فیلم‌ها شدند که علت آن می‌تواند قرار گرفتن ذرات نانو در فضای بین رشته‌های پروتئینی در شبکه فیلم و تخریب ساختار شبکه باشد. همچنین در سطوح بالاتر نانو ذرات احتمال به‌هم چسبیدن آن‌ها افزایش یافته و به علت قرار گرفتن ذرات درشت داخل شبکه احتمال نفوذ آب درون آن بیشتر می‌شود. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، فیلم‌های حاوی نانو ذرات اکسید با درصد بالا روی نسبت انحلال‌پذیری بیشتری داشتند که علت آن قطبیت این ذرات و جذب بیشتر مولکول های آب توسط آن‌ها و در نتیجه نفوذ بیشتر آب درون شبکه است. لی و همکاران (Li *et al.*, 2011) گزارش کردند که افزودن درصد کمی ۰/۲۵ تا ۱ از نانو ذرات اکسید تیتانیوم به فیلم پروتئینی تهیه شده از ایزوله پروتئینی آب پنیر سبب مقدار اندکی کاهش در انحلال پذیری فیلم‌ها می شود؛ اما مقادیر بالاتر (حدود ۲ اثر معنی‌داری نسبت به فیلم حاوی صفر درصد نانو ذرات اکسید تیتانیوم ایجاد نمی‌کند. در مقادیر

بالاتر نانو ذرات انحلال‌پذیری فیلم‌ها نسبت به فیلم شاهد افزایش می یابد. عدم تطابق نتایج بدست آمده می‌تواند به‌دلیل اختلاف در اندازه ذرات باشد، چرا که هر چه اندازه ذرات نانو درشت‌تر باشد، تخریب شبکه پروتئینی با شدت بیشتری اتفاق افتاده و جذب آب و انحلال بیشتر می شود. یکی دیگر از عوامل احتمالی دمای خشک کردن فیلم است؛ از آنجائی‌که فیلم‌های تهیه شده از ایزوله پروتئین آب پنیر نسبت به پروتئین‌های دیگر نیاز به دمای کمتری برای خشک شدن دارند، کمتر واسرشت شده و ساختمان پروتئینی آنها کمتر تخریب می‌شود و بنابراین انحلال‌پذیری آنها ممکن است نسبتا کاهش یابد.

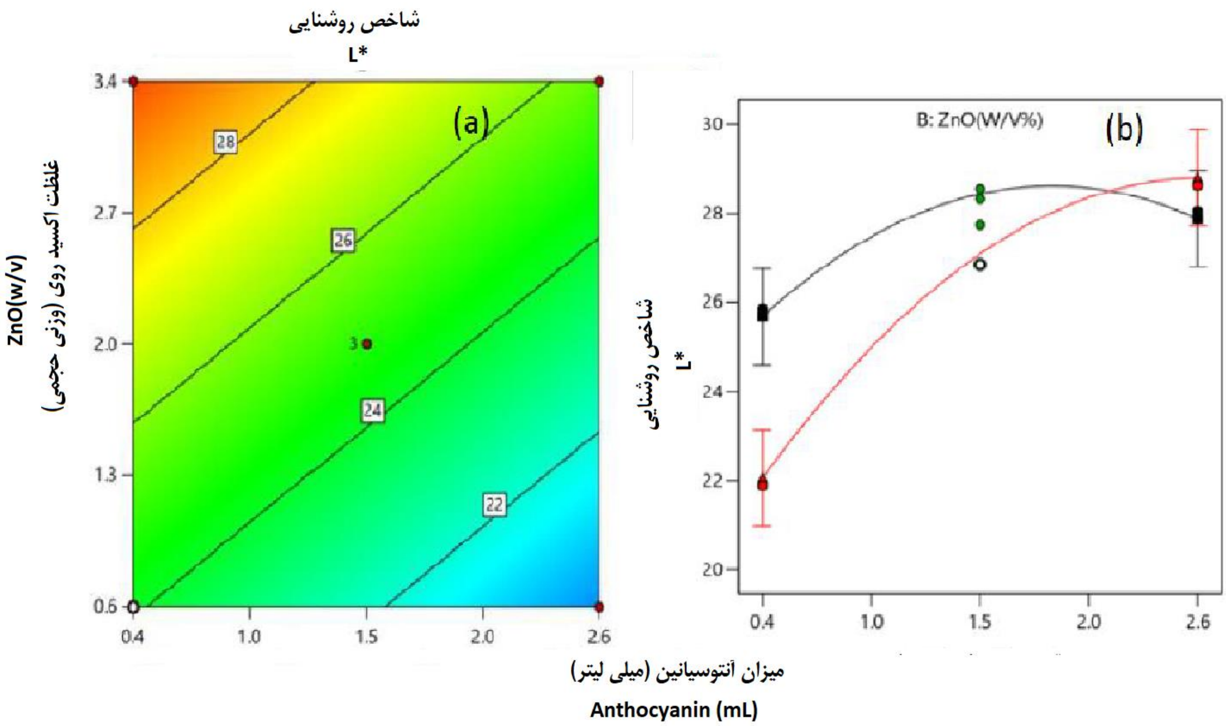
تغییرات رنگی فیلم‌ها

مشخصات رنگی فیلم‌های خوراکی از عوامل مهم در انتخاب محصول توسط مشتری است و ترکیبات به کار رفته و فرآیند ساخت بستگی دارد. در این تحقیق شاخص قرمزی (a)، شاخص روشنایی (L) و شاخص زردی (b) فیلم‌ها بررسی و نتایج به‌صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت.

شاخص‌های روشنایی (L) قرمزی (a) و زردی (b)

تغییرات روشنایی فیلم

تغییرات مربوط به شاخص‌های رنگ فیلم‌ها می‌تواند تابعی از ترکیبات افزودنی به فیلم باشد که در این تحقیق اثر آنتوسیانین و نانو ذرات اکسید روی مصرفی در تهیه فیلم در شکل ۳ آورده شده است. نتایج گویای اثر معناداری منابع تغییر بر روی شاخص روشنایی در مدل بدست آمده می‌باشد ($p<0.05$). به‌طوری‌که اثر هر یک از عوامل اثر متقابل و اثر درجه دوم آنتوسیانین بر روی شاخص رنگی مذکور معنادار می‌باشند ($p<0.05$). به‌طوری‌که با افزایش مقدار آنتوسیانین و اکسید روی مصرفی بر مقدار روشنایی فیلم تهیه شده کاسته شده است نتایج اثر برهمکنش و خطی فاکتورهای مذکور در شکل ۳ آمده است. شکل ۳ b گویا این است که در درصدهای بالای اکسید روی، آنتوسیانین اثر افزایشی داشته و در غلظت‌های پایین آن اثر افزایشی داشته است.



شکل ۳- اثر برهمکنش آنتوسیانین (انگور و انار) و نانو ذرات اکسید روی و منحنی (a)، اثر خطی فاکتورهای مورد مطالعه بر شاخص رنگی L فیلم‌ها (b)

Fig. 3. The interaction effect of anthocyanin (grape and pomegranate) and zinc oxide nanoparticles and the curve (a), the linear effect of the studied factors on the color index L of the films (b)

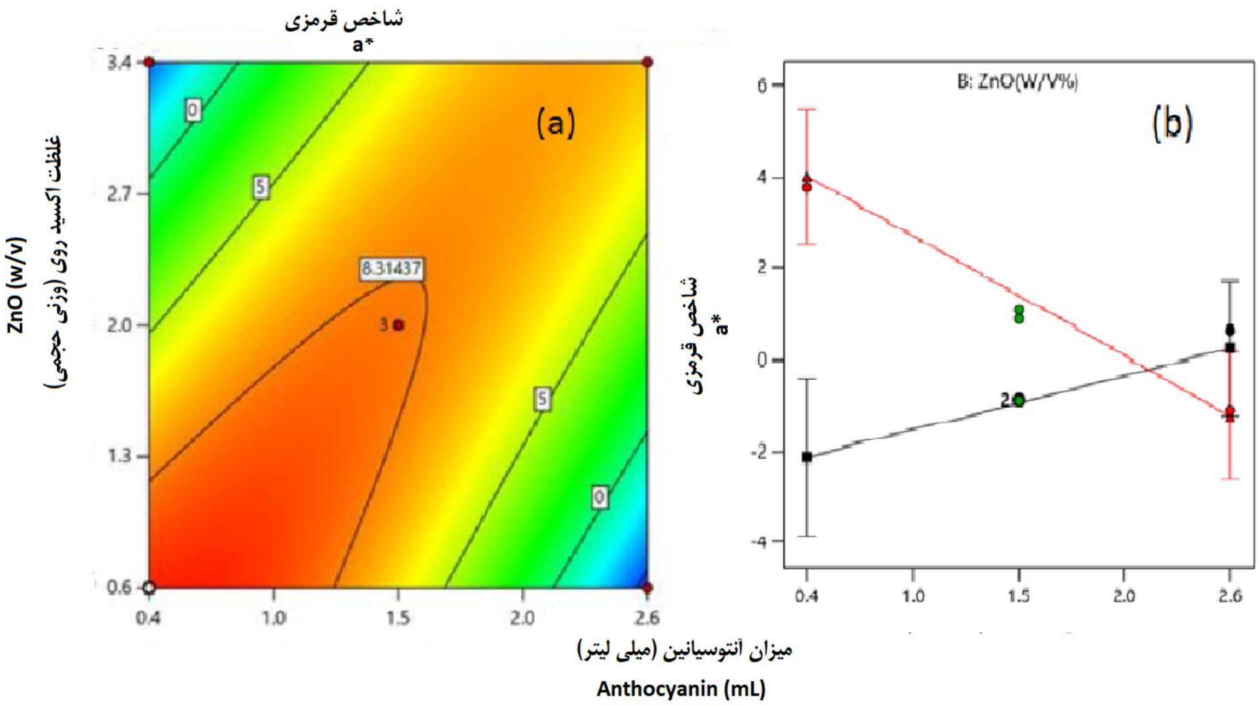
تغییرات شاخص قرمزی فیلم

مطابق با نتایج تغییرات قرمزی فیلم، اثر متقابل و آنتوسیانین و نانوذرات اکسید روی بر روی شاخص قرمزی فیلم‌ها معنادار می‌باشد (p<۰/۰۵). نتایج برهمکنش (قسمت الف) و خطی (قسمت ب) فاکتورهای مورد مطالعه بر روی شاخص قرمزی فیلم‌ها در شکل ۴ نشان داده شده است. به‌طوری‌که میزان قرمزی فیلم با افزایش مقدار آنتوسیانین و افزایش درصد نانوذره اکسید روی بر مقدار شاخص قرمزی فیلم‌ها کاسته می‌شود (p<۰/۰۵). مطابق با نتایج برهمکنش قسمت الف شکل ۴، بیشترین میزان قرمزی در محدوده میانی فاکتورهای مورد مطالعه دیده می‌شود و قسمت ب شکل نیز نشان می‌دهد که در درصدهای بالایی از نانوذرات اکسید روی، آنتوسیانین اثری کاهشی بر روی میزان قرمزی داشته و در درصدهای پایینی از نانوذرات اکسید روی، بر افزایش قرمزی اثر معنادار دارد.

تغییرات زردی فیلم‌ها

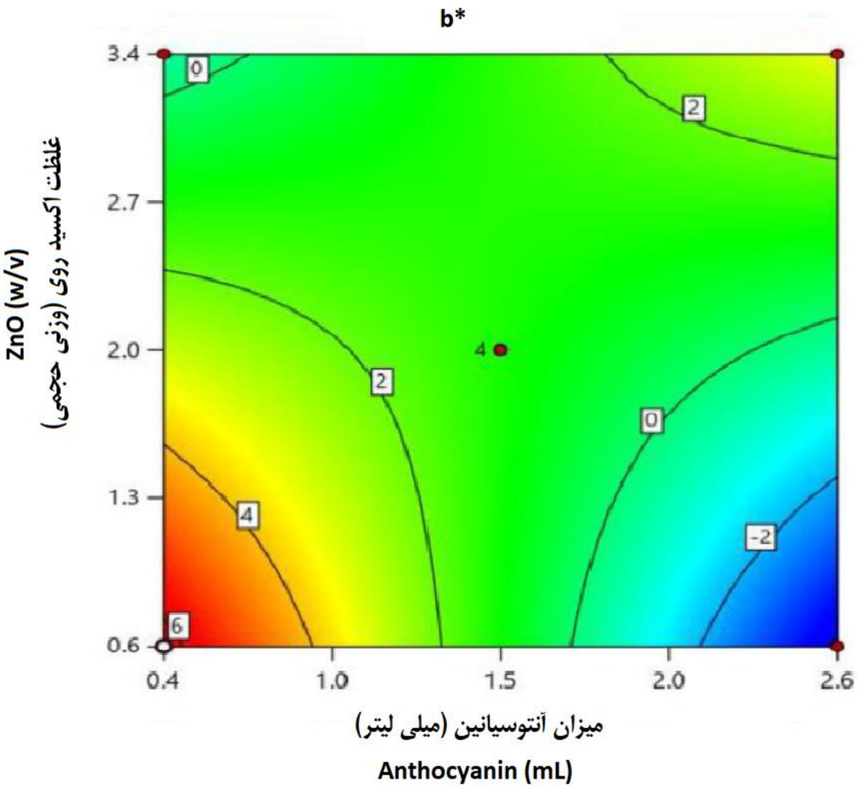
بر اساس نتایج تغییرات قرمزی فیلم، اثر متقابل و درجه دوم آنتوسیانین و نانوذرات اکسید روی بر روی شاخص زردی فیلم‌ها معنادار می‌باشد (p<۰/۰۵). نتایج برهمکنش فاکتورهای مورد مطالعه بر روی شاخص زردی فیلم‌ها در شکل ۵ نشان داده شده است. به‌طوری‌که میزان زردی فیلم با افزایش مقدار آنتوسیانین و افزایش درصد نانو ذره اکسید روی، بر مقدار شاخص زردی فیلم‌ها کاسته می‌شود (p<۰/۰۵). مطابق با نتایج برهمکنش بیشترین میزان زردی در قسمت ابتدایی منحنی مربوط به اثر فاکتورهای مورد مطالعه دیده می‌شود.

در تبین نتایج تغییرات رنگی فیلم‌ها می توان گفت که خصوصیات رنگی فیلم‌های مورد استفاده برای بسته‌بندی فرآورده‌های غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا رنگ اولین فاکتوری است که مصرف کننده از محصول درک می‌کند و از این رو تأثیر مستقیم بر جذابیت محصول و پذیرش آن از طرف مصرف‌کننده دارد (Velásquez *et al.*, 2021) در بسیاری از محصولات مصرف‌کنندگان تمایل دارند رنگ واقعی فرآورده غذایی درون بسته را مشاهده نمایند و یا از تازگی آن اطمینان حاصل کنند. از طرف دیگر ماهیت فرآورده غذایی و میزان حساسیت آن نسبت به نور تا اندازه‌ای در انتخاب ماده مورد استفاده برای بسته‌بندی تأثیرگذار است.



شکل ٤- اثر برهمکنش آنتوسیانین (انگور و انار) و نانو ذرات اکسید روی و منحنی (a)، اثر خطی فاکتورهای مورد مطالعه بر شاخص رنگی a فیلم‌ها (b)

Fig. 4. The interaction effect of anthocyanin (grape and pomegranate) and zinc oxide nanoparticles and the curve (a), the linear effect of the studied factors on the color index a of the films (b)



شکل ۵- منحنی برهمکنش آنتوسیانین انگور و انار و نانو ذرات اکسید روی بر شاخص رنگی b فیلم

Fig. 5. The interaction curve of anthocyanin (grape) and (pomegranate) and zinc oxide nanoparticles on the color index b of the film

برخی از محصولات حساس به نور باید درون بسته‌های تیره‌تری بسته‌بندی شوند تا از تغییر رنگ آن‌ها در برابر نور جلوگیری شود. فیلم پروتئینی تولید شده از کنسانتره آب پنیر رنگی قهوه‌ای داشته و افزودن نانو ذره اکسید روی و آنتوسیانین سبب در رنگی فیلم‌ها شد یکی از دلایل آن می‌تواند به هم چسبیدن نانو ذرات اکسید روی در غلظت‌های بالا و تجمع پروتئین‌ها در اطراف این توده‌ها باشد که سبب تیره شدن رنگ فیلم شده است (Solano-Doblado *et al*., 2020). در بین فیلم‌های تهیه شده از نانو ذرات اکسید روی فیلم‌های حاوی کمترین درصد بهترین خصوصیات را از نظر روشنی داشتند یا به عبارتی غنی سازی محلول تشکیل فیلم با مقادیر مختلف عصاره آنتوسیانین کدورت را افزایش داد که ممکن است به‌دلیل مقدار آنتوسیانین برای رنگ‌های قرمز بنفش و آبی در گیاهان موجود در عصاره مسئول باشد (Hanani *et al*., 2019). از سوی، دیگر در خصوص روند کاهشی روشنایی (مقدار L) می‌توان گفت از آنجایی که آنتوسیانین‌ها می‌توانند مانع انتقال نور شوند و می‌توانند نور را پراکنده کنند، کدورت با افزودن عصاره غنی از آنتوسیانین به فیلم‌های هوشمند افزایش می‌یابد. ماهیت تیرگی رنگ ذرات نانو اکسید روی خود می‌توانند در ایجاد تیرگی و کاهش روشنایی مؤثر باشد.

از طرفی نانو ذرات به علت مسدود کردن منافذ موجود در فیلم میزان نور عبوری از فیلم‌ها کاهش می دهند و مقدار پر تو عبوری با افزایش سطح هر یک از نانو ذرات کاهش بیشتری را نشان می‌دهد، بنابراین افزودن نانو ذرات سبب افزایش کدورت فیلم‌ها شده و این تغییر برای هر دو نوع نانو ذره مورد استفاده صادق است. طبق گزارش نتایجی مشابه محققان عنوان کردند فیلم کامپوزیتی کیتوزان حاوی نانو ذرات نقره کدورت بیشتری نسبت به فیلم شاهد داشته است و بیان کردند که کاهش شفافیت فیلم‌های پروتئینی تهیه شده از کیتوزان حاوی نانوذرات نقره کدورت بیشتری را در مقایسه با سایر نانو ذرات افزوده شده، در شرایط یکسان تولید نشان دادند و علت آن را ناهمگن بودن این فیلم‌ها و تمایل بیشتر نانو ذرات نقره برای چسبیدن به هم مطرح کردند (Rhim *et al*., 2006).

بهینه‌سازی و مطلوبیت

بهینه‌سازی و مطلوبیت با آنتوسیانین انار

یکی از اهداف این مطالعه تعیین مقادیر بهینه متغیرهای وابسته برای تولید فیلم حاوی آنتوسیانین‌های انگور و انار بوده است. برای بهینه

سازی از روش تابع مطلوبیت استفاده شد. تابع مطلوبیت برای هر پاسخ با روش‌های عددی تخمین زده شد و تابع مطلوبیت کلی برای نمونه-های بهینه انار وانگور قرمز به‌دست آمد. برای بهینه انار نتایج بدست آمده شامل مقدار آنتوسیانین برابر ۲/۶ سی‌سی، نانوذرات اکسید روی ۰/۶ (وزنی/حجمی)، حلالیت ۶۵/۳۷ ضخامت ۰/۶۴ میلی‌متر، شاخص های L a و b به‌ترتیب ۲۷/۸۸، ۰/۲۴ و ۲/۰۱- بدست آمد. در نهایت میزان مطلوبیت کل آن نیز ۰/۵۸ بدست آمد (شکل a ۶).

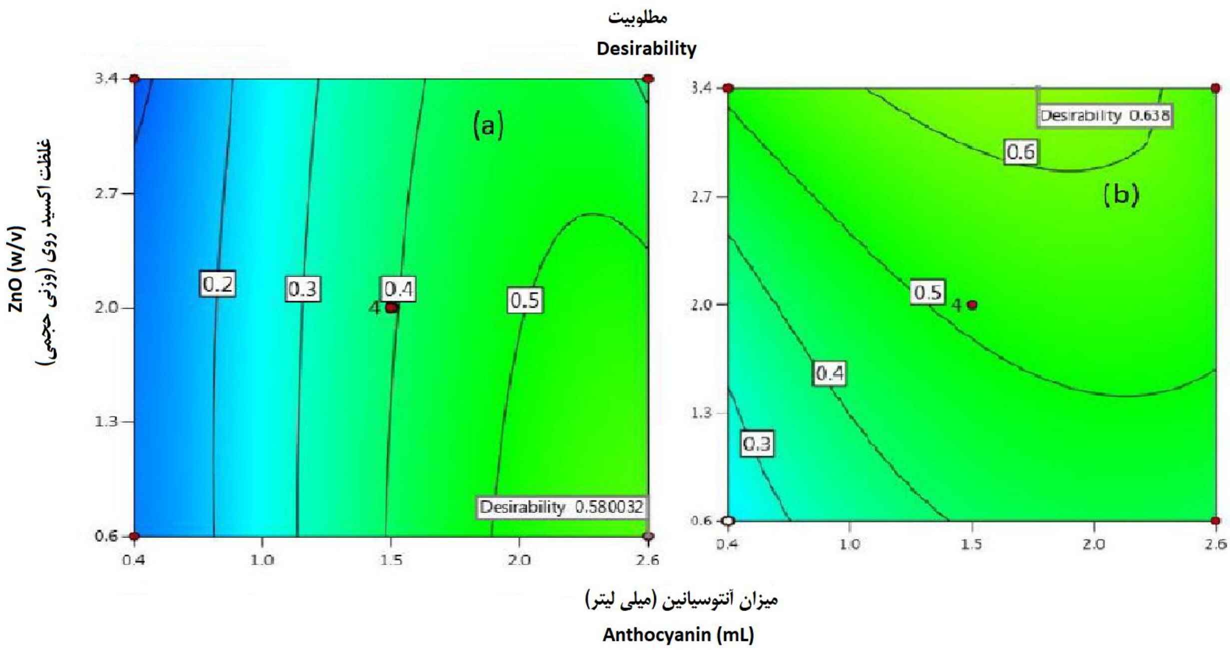
بهینه‌سازی و مطلوبیت با آنتوسیانین انگور

تابع مطلوبیت برای هر پاسخ با روش‌های عددی تخمین زده شد و تابع مطلوبیت کلی برای نمونه‌های بهینه انگور قرمز مانند بهینه انار به دست آمد. برای نمونه‌های فیلم بهینه انگور نتایج بدست آمده شامل: مقدار آنتوسیانین برابر ۱/۳۸ سی‌سی نانوذرات اکسید روی ۳/۴ (وزنی/حجمی)، حلالیت ۵۹/۸۳٪، ضخامت ۰/۸۳ میلی‌متر، شاخص های L a و b به‌ترتیب ۲۷/۰۳، ۷/۰۵ و ۱/۹۲ بدست آمد. در نهایت میزان مطلوبیت کل آن نیز ۰/۶۳ بدست آمد (شکل b ۶).

نتایج FTIR

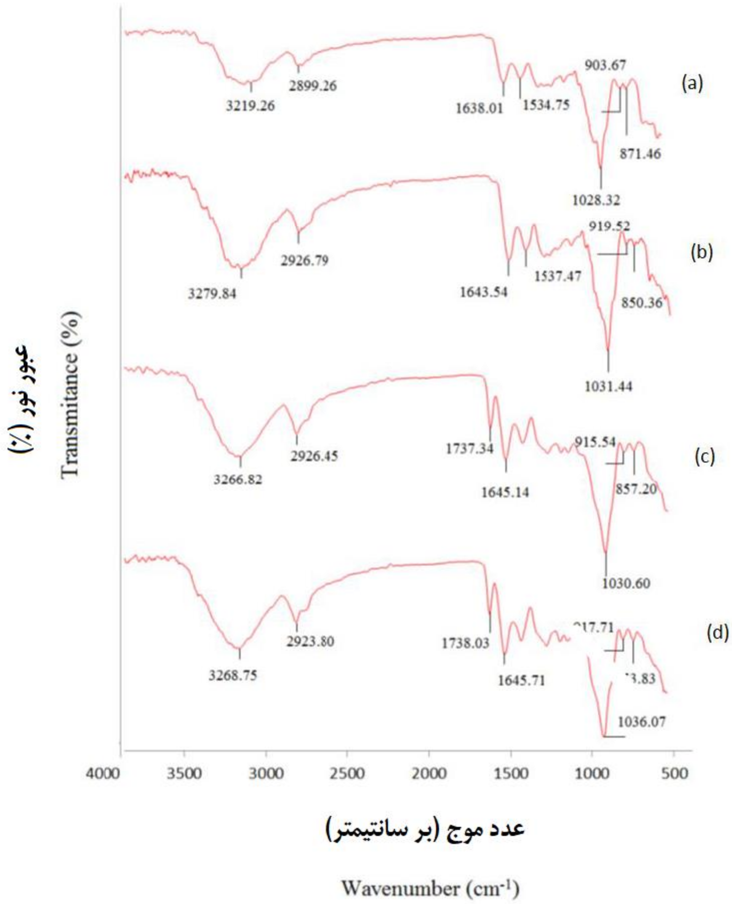
در طیف‌های FTIR نشان داده شده در شکل ۷، خاص‌ترین نوارهای جذب پروتئین‌ها را می‌توان شناسایی کرد، به‌عنوان مثال، نوارهای مربوط به آمید نوع اول (C=O; v CN) و همچنین آمید نوع دوم (N-H; 0 C-N) به‌ترتیب در ۱۶۴۰ cm^{-1} و ۱۵۰cm $^{-1}$ پیوند می-یابد پیک‌های دیگر در منطقه بین ۱۵۰۰cm $^{-1}$ و ۷۰۰ وجود داشت که می‌تواند به اسیدهای چرب و کربوهیدرات‌های موجود در WPI نسبت داده شود (Koehler *et al*., 2019).

با افزایش محتوای n-ZnO- در فیلم کامپوزیت هیچ تغییری در باندها مشاهده نشد که شواهد احتمالی از برهمکنش بین ماتریس و پرکننده *است* (Saedi *et al*., 2021). در محدوده طیفی بین ۳۰۰۰ تا ۳۶۰۰ ، پیک جذب اصلی به گروه‌های آزاد و محدود O-H و N-H به تمام پروتئین‌ها نسبت داده می‌شود. در حالت کلی در طول موج ۳۴۰۰ نانومتر مربوط به ارتعاش کشش پیوند C-HR می‌باشد. فاصله بین عددهای ۲۷۰۰ تا ۳۷۰۰ مربوط به جذب هیدروژن است. گروه‌های NH در ۱۵۷۰ و ۳۳۵۰ از خود موج جذب نشان می‌دهند. به‌طوری کلی مشخص شد که پیک‌های مختلف مشاهده شده برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین پروتین کنسانتره آب پنیر و عصاره انار و انگور را نشان می‌دهند.



شکل ٦- تابع مطلوبیت مربوط به نمونه با آنتوسیانین انار (a) و نمونه با آنتوسیانین انگور (b)

Fig. 6. The desirability of the sample with pomegranate anthocyanin (a) and the sample with grape anthocyanin (b)



شکل ۷- نتایج آزمون FTIR: نمونه شاهد (a)، نمونه ماکزیم انار (b)، نمونه بهینه انار (c) و نمونه بهینه انگور (d)

Fig. 7. FTIR test results: control sample (a), maximum pomegranate sample (b), optimal pomegranate sample (c) and optimal grape sample (d)

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایشات بر روی فیلم تولیدی نشان می‌دهد که افزایش غلظت آنتوسیانین و نانو ذرات اکسید روی باعث افزایش معنادار در ضخامت و کاهش معنادار در میزان حلالیت فیلم‌های تولیدی گردید. از لحاظ خصوصیات رنگی افزودن آنتوسیانین و نانوذرات اکسید روی باعث زردی و قهوه ای شدن فیلم‌های تولید گردید. نتایج بهینه‌سازی و مطلوبیت نیز نشان داد که فیلم بهینه تهیه شده از آنتوسیانین انگور قرمز بیشترین مطلوبیت (۰/۶۳) را در مقایسه با فیلم بهینه انار (۰/۵۸) بدست آورد. غلظت‌های بالاتر آنتوسیانین‌ها و نانوذرات نیز بر مورفولوژی سطح لایه‌ها تأثیر منفی گذاشت. تجزیه و تحلیل FTIR نشان داد که برهمکنش بین کنسانتره آب پنیر و آنتوسیانین‌ها احتمالاً مسئول تغییرات در خواص لایه‌های کامپوزیت است. به‌طور کلی، این مطالعه نشان داد که آنتوسیانین‌ها و نانوذرات کسید روی پتانسیل استفاده برای تهیه فیلم‌های بر پایه کنسانتره آب پنیر فعال زیستی با خواص فیزیکوشیمیایی بهبود یافته را در صورت استفاده در غلظت‌های مناسب دارند. مطالعات بیشتر می‌تواند اثرات افزودن ترکیبات فوق به کنسانتره آب پنیر را بر خواص بیولوژیکی (مانند آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی) فیلم‌های آب پنیر بررسی کند.

میزان مشارکت

ابراهیم تقی زاده: تحقیق و بررسی، مدیریت پروژه و روش‌شناسی **محمد علیزاده خالدآباد:** مدیریت داده‌ها، نظارت و نوشتن- بررسی و ویرایش، **حامد حسن زاده:** نرم‌افزار، نوشتن-پیش‌نویس اصلی و منابع

منابع تأمین مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرد.

References

1. Abdellatif, A.A., Alawadh, S.H., Bouazzaoui, A., Alhowail, A.H., & Mohammed, H.A. (2020). Anthocyanins rich pomegranate cream as a topical formulation with anti-aging activity. *Journal of Dermatological Treatment*, 1-8. https://doi.org/10.1080/09546634.2020.1721418
2. Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012). Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, *47*, 847-853. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02917.x
3. Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A.A., Noman, M., & Muhammad, S. (2018). Biodegradation of plastics: Current scenario and future prospects for environmental safety. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(8), 7287-7298. https://link.springer.com/article/10.1007/S11356-018-1234-9
4. Amit, S.K., Uddin, M.M., Rahman, R., Islam, S.R., & Khan, M.S. (2017). A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. *Agriculture & Food Security*, *6*(1), 1-22. https://link.springer.com/article/10.1186/s40066-017-0130-8
5. Dasgupta, N., Ranjan, S., & Gandhi, M. (2019). Nanoemulsions in food: market demand. *Environmental Chemistry Letters*, *17*(2), 1003-1009. https://link.springer.com/article/10.1007/s10311-019-00856-2
6. Diblan, S., Erdem, B.G., & Kaya, S. (2020). Sorption, diffusivity, permeability and mechanical properties of chitosan, potassium sorbate, or nisin incorporated active polymer films. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(10), 3708-3719. https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-020-04403-8
7. Díaz- García, M.C., Castellar, M.R., Obón, J.M., Obón, C., Alcaraz, F., & Rivera, D. (2015). Production of an anthocyanin- rich food colourant from *Thymus moroderi* and its application in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(6), 1283-1293. https://doi.org/10.1002/jsfa.6821
8. Fathiraja, P., Gopalrajan, S., Karunanithi, M., Nagarajan, M., Obaiah, M.C., Durairaj, S., & Neethirajan, N. (2021). Response surface methodology model to optimize concentration of agar, alginate and carrageenan for the improved properties of biopolymer film. *Polymer Bulletin*, 1-27. https://link.springer.com/article/10.1007/s00289-021-03797-5
9. Hanani, Z.N., Yee, F.C., & Nor-Khaizura, M.A.R. (2019). Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging. *Food Hydrocolloids, 89*, 253-259. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.007
10. Hosseini, M., Hassanzadeh, H., & Miri, P. (2023). Investigating the physicochemical and mechanical properties of edible active films based on gelatin containing essential oils of thyme, oregano and sage. *Journal of Food Processing and Preservation*. https://doi.org/10.22069/FPPJ.2023.21472.1768
11. Ifmalinda, I., Kurnia, S.A., & Cherie, D. (2023). Characteristics of edible film from corn starch (*Zea mays* L.) with additional glycerol and variations of zinc oxide (ZnO) nanoparticles. *Journal of Applied Agricultural Science and Technology*, *7*(3), 272-285. https://doi.org/10.55043/jaast.v7i3.87
12. Jafari, S.M., Ghalenoei, M.G., & Dehnad, D. (2017). Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. *Powder Technology*, *311*, 59-65. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.01.070
13. Jahed, E., Khaledabad, M.A., Almasi, H., & Hasanzadeh, R. (2017). Physicochemical properties of *Carum copticum* EO loaded chitosan films containing organic nanoreinforcements. *Carbohydrate Polymers*, *164*, 325-338. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.022
14. Koehler, J., Wallmeyer, L., Hedtrich, S., Goepferich, A.M., & Brandl, F.P. (2017). pH-modulating poly (ethylene glycol)/alginate hydrogel dressings for the treatment of chronic wounds. *Macromolecular bioscience*, 17(5), 1600369. https://doi.org/10.1002/mabi.201600369
15. Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G., & Leng, X. (2011). Fabrication and characterization of TiO2/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1098-1104. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.10.006
16. Liu, C. , Jin, T. , Liu, W. , Hao, W. , Yan, L. , & Zheng, L. (2021). Effects of hydroxyethyl cellulose and sodium alginate edible coating containing asparagus waste extract on postharvest quality of strawberry fruit. *LWT*, 111770. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111770
17. Matta Fakhouri, F., Nogueira, G.F., de Oliveira, R.A., & Velasco, J.I. (2019). Bioactive edible films based on arrowroot starch incorporated with cranberry powder: Microstructure, thermal properties, ascorbic acid content and sensory analysis. *Polymers*, *11*(10), 1650. https://doi.org/10.3390/polym11101650
18. Mileriene, J., Serniene, L., Henriques, M., Gomes, D., Pereira, C., Kondrotiene, K., & Malakauskas, M. (2021). Effect of liquid whey protein concentrate–based edible coating enriched with cinnamon carbon dioxide extract on the quality and shelf life of Eastern European curd cheese. *Journal of Dairy Science*, *104*(2), 1504-1517. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18732

19. Misra, S., Pandey, P., & Mishra, H.N. (2021). Novel approaches for co-encapsulation of probiotic bacteria with bioactive compounds, their health benefits and functional food product development: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *109*, 340-351. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.039
20. Moghadam, M., Salami, M., Mohammadian, M., & Emam-Djomeh, Z. (2021). Development and characterization of ph-sensitive and antioxidant edible films based on mung bean protein enriched with echium amoenum anthocyanins. *Journal of Food Measurement*, *15*(4), 2984-2994. https://link.springer.com/article/10.1007/s11694-021-00872-3
21. Momeni, R., Hosseini, M., Hassanzadeh, H., & Saifi, T. (2024). production of antimicrobial active edible film based on gelatin containing *Salvia officinalis* essential oil: physical, mechanical, antioxidant and antimicrobial properties. *Food Research Journal*, *33*(4), 29-43. https://doi.org/10.22034/FR.2023.56857.1877
22. Musso, Y.S., Salgado, P.R., & Mauri, A.N. (2019). Smart gelatin films prepared using red cabbage (*Brassica oleracea* L.) extracts as solvent. *Food Hydrocolloids*, *89*, 674-681. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.036
23. Nasiri, M., & Tamdan, M, (2014). Investigating the antimicrobial properties of zinc oxide nanoparticles synthesized with the help of ultrasonic waves. *Yazd Health Dawn*, *13*(4), 115-128.
24. Otoni, C.G., Avena-Bustillos, R.J., Azeredo, H.M., Lorevice, M.V., Moura, M.R., Mattoso, L.H., & McHugh, T.H. (2017). Recent advances on edible films based on fruits and vegetables—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *16*(5), 1151-1169. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12281
25. Pala, Ç.U., & Toklucu, A.K. (2011). Effect of UV-C light on anthocyanin content and other quality parameters of pomegranate juice. *Journal of Food Composition and Analysis*, *24*(6), 790-795. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.003
26. Panche, A., Diwan, A., & Chandra, S. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, *5*. https://doi.org/10.1017/jns.2016.41
27. Pino, P., Ronchetti, S., Mollea, C., Sangermano, M., Onida, B., & Bosco, F. (2021). Whey proteins–zinc oxide bionanocomposite as antibacterial films. *Pharmaceutics*, *13*(9), 1426. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091426
28. Razmjoo, F., Sadeghi, E., Rouhi, M., Mohammadi, R., Noroozi, R., & Safajoo, S. (2021). Polyvinyl alcohol–Zedo gum edible film: Physical, mechanical and thermal properties. *Journal of Applied Polymer Science*, *138*(8), 49875. https://doi.org/10.1002/app.49875
29. Rhim, J.-W., Hong, S.-I., Park, H.-M., Ng, P.K.J.J., & Chemistry, F. (2006). Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *54*(16), 5814-5822.
30. Rodriguez-Amaya, D.B. (2019). Update on natural food pigments-A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*, *124*, 200-205. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.028
31. Saedi, S., Shokri, M., Kim, J.T., & Shin, G.H. (2021). Semi-transparent regenerated cellulose/ZnONP nanocomposite film as a potential antimicrobial food packaging material. *Journal of Food Engineering*, 307, 110665. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110665
32. Solano Doblado, L. G., Heredia Mira, F. J., Gordillo Arrobas, B., Dávila Ortiz, G., Alamilla Beltrán, L., Maciel Cerda, A., & Jiménez Martínez, C. (2020). pH-indicating properties and storage stability of a smart edible film based on nopal-mucilage/gellan gum and red cabbage anthocyanins. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *19*(Sup. 1), 363-374. https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim1583
33. Taghizadeh, E., Alizadeh, M., & Hassanzadeh, H. (2023). Investigation of antimicrobial, antioxidant and physicochemical properties of active film based on whey protein containing pomegranate and red grape anthocyanins and zinc oxide nanoparticles. *Innovative Food Technologies*, *10*(4), 397-410. https://doi.org/10.22104/IFT.2023.6374.2145
34. Thulasisingh, A., Kumar, K., Yamunadevi, B., Poojitha, N., SuhailMadharHanif, S., & Kannaiyan, S. (2021). Biodegradable packaging materials. *Polymer Bulletin*, 1-30. https://link.springer.com/article/10.1007/s00289-021-03767-x
35. Velásquez, P., Bustos, D., Montenegro, G., & Giordano, A.J.M. (2021). Ultrasound-assisted extraction of anthocyanins using natural deep eutectic solvents and their incorporation in edible films. *Molecules*, *26*(4), 984. https://doi.org/10.3390/molecules26040984
36. Wang, N., Liu, W., Zhang, T., Jiang, S., Xu, H., Wang, Y., & Chen, X. (2018). Transcriptomic analysis of red-fleshed apples reveals the novel role of mdwrky11 in flavonoid and anthocyanin biosynthesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(27), 7076-7086. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01273